

学位授与番号	甲第1538号
学位授与年月日	平成14年6月30日
氏 名	杉 本 寿 史
学位論文題目	Differential Recognition of Tyrosine-based Basolateral Signals by AP-1B Subunit μ 1B in Polarized Epithelial Cells (上皮特異的に発現する蛋白輸送因子 μ 1B によるバソラテラルシグナルの認識機構)
論文審査委員	主 査 教 授 佐 藤 博 副 査 教 授 山 本 博 教 授 福 田 龍 二

内容の要旨及び審査の結果の要旨

上皮細胞は極性を持ち、その細胞膜は密着斑により頂端面と側底面に分けられる。新たに合成される膜蛋白質はトランスゴルジ網から小胞輸送により選択的にそれぞれの膜領域へと運ばれていく。側底面への選別輸送に関与する μ 1B は AP1 複合体 μ 鎖のホモログであり、上皮細胞特異的に発現する。 μ 1B とチロシンシグナルとの結合が側底面への選別輸送にどのように関与するかを解明するために、チロシンシグナルと結合しない μ 1B 変異体を作成し、 μ 1B 発現のないブタ近位尿細管上皮細胞株 LLC-PK1 に発現させ（変異 μ 1B 発現細胞）、野生型 μ 1B 発現細胞株（野生型 μ 1B 発現細胞）、 μ 1B 発現のない親株 LLC-PK1（ μ 1B 細胞）と比較検討した。得られた結果は以下のように要約される。

1. チロシンシグナルの認識に重要と考えられる F172, D174, W408, R410 をアラニンに置換した μ 1B 変異体を作成し、この μ 1B 変異体がチロシンシグナルと結合できないことを yeast 2-hybrid 法にて確認した。
2. 変異 μ 1B 細胞において、 μ 1B 変異体が野生型 μ 1B 同様 AP1 複合体に組み込まれることを免疫沈降法にて確認した。また gel filtration 法により、 μ 1B 変異体が他の AP 複合体に組み込まれないことを証明した。
3. チロシンシグナルにより側底面へと輸送されることが知られているアシアロ糖蛋白受容体 H1 鎖（AGPR-H1）を免疫染色法にて解析したところ、 μ 1B 細胞、変異 μ 1B 発現細胞においては頂端面、側底面の両方に発現が見られたのに対し、野生型 μ 1B 発現細胞ではほとんどが側底面に見られた。また、H1 のチロシンシグナル YQDL のチロシンをアラニンに置換した変異蛋白質を野生型発現 μ 1B 細胞に発現させると、やはり頂端面、側底面の両方に発現することを確認した。同じくチロシンシグナルにより側底面へ輸送される Tac-lamp1 キメラ蛋白質でも同様の結果を得た。両者においては μ 1B の特定のアミノ酸によるチロシンシグナルの認識が側底面への選別輸送の分子機序であることを明らかにした。
4. チロシンシグナルとは異なるタイプの側底面輸送シグナルを持つ低密度リボ蛋白質（LDL）受容体およびトランスフェリン受容体についても上記と同様の解析を行った。その結果、 μ 1B 細胞では頂端面、側底面の両方に発現が見られたのに対し、野生型 μ 1B 発現細胞、変異 μ 1B 発現細胞ではほとんどが側底面に発現していた。両者は μ 1B のチロシンシグナル認識部位は重要ではないことが示唆された。
5. 野生型 μ 1B は LLC-PK1 細胞による上皮細胞に特徴的な単層構造の形成にも重要であることがわかっている。LLC-PK1 による単層構造は、我々の作成した変異 μ 1B の存在下でも形成されることがわかった。また、 μ 1B による上皮細胞の単層構造の形成維持も同様にチロシンシグナル結合活性とは異なる μ 1B の機能を必要とすることが示唆された。

本研究は上皮特異的に発現する μ 1B の、側底面への選別輸送に関わる機序を明らかにしたものであり、学位授与に値すると評価された。